

DISERTASI

**ANALISIS RASIO OSTEOLAS DAN OSTEOKLAS  
PADA RESORPSI TULANG PERIAPIKAL TIKUS WISTAR  
BERDASARKAN KONSENTRASI DAN LAMA INDUKSI  
BAKTERI *Fusobacterium nucleatum***

**OSTEOBLAST and OSTEOCLAST RATIO ANALYSIS in WISTAR RATS  
PERIAPICAL BONE RESORPTION BASED on CONCENTRATION and  
INDUCTION TIME that INDUCED by *Fusobacterium nucleatum***



**JUNI JEKTI NUGROHO**

**P0200309048**

**PROGRAM S3 KEDOKTERAN PASCASARJANA  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR**

**2015**

**ANALISIS RASIO OSTEOLAS DAN OSTEOKLAS  
PADA RESORPSI TULANG PERIAPIKAL TIKUS WISTAR  
BERDASARKAN KONSENTRASI DAN LAMA INDUKSI  
BAKTERI *Fusobacterium nucleatum***

**OSTEOBLAST and OSTEOCLAST RATIO ANALYSIS in WISTAR RATS  
PERIAPICAL BONE RESORPTION BASED on CONCENTRATION and  
INDUCTION TIME that INDUCED by *Fusobacterium nucleatum***

Disertasi

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Doktor  
Program Studi Kedokteran

Disusun dan diajukan oleh :

**JUNI JEKTI NUGROHO**

**P0200309048**

Kepada:

**PROGRAM S3 KEDOKTERAN PASCASARJANA  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR**

**2015**

**DISERTASI**

**ANALISIS RASIO OSTEOLAS DAN OSTEOKLAS  
PADA RESORPSI TULANG PERIAPIKAL TIKUS WISTAR  
BERDASARKAN KONSENTRASI DAN LAMA INDUKSI  
BAKTERI *Fusobacterium nucleatum***

Disusun dan diajukan oleh

**JUNI JEKTI NUGROHO**  
**Nomor Pokok P0200309048**

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Disertasi  
Pada tanggal 08 Januari 2015

Menyetujui  
Komisi Penasihat,

Prof. Dr. drg. Latief Mooduto, MS, SpKG(K)  
Promotor

Prof. Dr. dr. Suryani As'ad, MSc, SpGK(K)  
Ko-Promotor

Dr. drg. Andi Sumidarti, MKes  
Ko-Promotor

Ketua Program Studi S3 Ilmu Kedokteran,

Dekan Fakultas Kedokteran,

Prof. dr. Mochammad Hatta, PhD, SpMK(K)

Prof. Dr. dr. A. Asadul Islam, SpBS

Direktur Program Pascasarjana  
Universitas Hasanuddin

Prof. Dr. Syamsul Bahri, SH, MH

## **PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI**

Yang bertanda tangan di bawah ini

Nama : Juni Jekti Nugroho

Nomor Pokok : P0200309048

Program Studi : S3 Ilmu Kedokteran Program Pascasarjana

Universitas Hasanuddin Makassar

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa disertasi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau seluruhnya disertasi ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 18 Desember 2014

yang menyatakan,

Juni Jekti Nugroho

## PANITIA PENGUJI

- |  |                        |
|--|------------------------|
| 1. Prof.Dr.drg Latief Mooduto, MS., SpKG (K) | (Promotor/Penguji)     |
| 2. Prof.Dr.dr Suryani As'ad M.Sc., SpGK (K)  | (Ko- promotor/Penguji) |
| 3. Dr.drg Andi Sumidarti, M.Kes              | (Ko- promotor/Penguji) |
| 4. Dr.drg Tamara Yuanita MS., SpKG (K)       | (Penguji Eksternal)    |
| 5. Prof.Dr.drg Rasmidar Samad ,MS            | (Penguji)              |
| 6. Dr.dr Burhanuddin Bahar ,MS               | (Penguji)              |
| 7. Dr.drg Indriya Kirana Matulada ,MS        | (Penguji)              |
| 8. Dr.drg Irene E. Rieuwpassa, MS.i          | (Penguji)              |

## PRAKATA

Bismillaahir Rahmaanir Rahiim

Perkenankanlah penulis memanjatkan puji dan syukur kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karuniaNya, sehingga penulis dapat menyelesaikan disertasi ini. Penulis menyadari sepenuhnya disertasi ini dapat diselesaikan berkat bantuan, bimbingan, arahan, saran, koreksi dan dukungan dari berbagai pihak. Dengan hati yang tulus perkenankan penulis menghaturkan terima kasih yang tak terhingga dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada yang terhormat :

1. **Ibu Prof. Dr. Dwia Aries Tina Pulubuhu, MA** selaku Rektor Universitas Hasanuddin, **Bapak Prof. Dr. dr. Idrus Patturusi, SpBO**, selaku Rektor Universitas Hasanuddin periode 2006-2014 atas berkenan dan diterimanya penulis untuk mengikuti dan menyelesaikan studi pada Program Doktorat Ilmu Kedokteran Universitas Hasanuddin.
2. **Bapak Prof. Dr. dr. Andi Asadul Islam**, selaku Dekan Fakultas Kedokteran, dan **Bapak Prof. dr. Irawan Yusuf, Ph.D** selaku Dekan Fakultas Kedokteran periode sebelumnya yang telah memberikan izin mengikuti pendidikan ini.
3. **Bapak Prof. dr. Mochammad Hatta, PhD, SpMK (K)** selaku Ketua Program Studi S3 Ilmu Kedokteran Universitas Hasanuddin, dan **Prof. Dr. dr. Suryani As'ad MSc, SpGK (K)** selaku Ketua Program Studi S3 Ilmu Kedokteran Universitas Hasanuddin periode sebelumnya yang telah memberi kesempatan melanjutkan Program Pendidikan Doktor. Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan rahmat dan membalas amal kebaikan beliau.
4. **Bapak Prof. Dr. Syamsul Bahri SH, MH** selaku Direktur Program Pascasarjana Unhas dan **Bapak Prof. Dr. Ir. Mursalim, MS** selaku Direktur

Program Pascasarjana Unhas periode sebelumnya, atas berkenan dan diterimanya penulis untuk mengikuti dan menyelesaikan studi pada Program Doktorat Ilmu Kedokteran Universitas Hasanuddin.

5. **Bapak Prof. Dr. drg. Latief Mooduto, MS., SpKG (K)** selaku Promotor yang selalu memberikan perhatian dan penuh kesabaran membimbing, memotivasi, membantu, memperluas wawasan keilmuan serta memberikan saran dan dukungan moril secara terus-menerus, sehingga penulis dapat menyelesaikan disertasi ini. Semoga Allah SWT selalu melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya kepada beliau.
6. **Ibu Prof. Dr. dr Suryani As'ad M.Sc., SpGK (K)** selaku Ko-promotor. Terimakasih yang sebesar-besarnya atas segala bimbingan dorongan dan kepercayaan serta kesempatan untuk melaksanakan penelitian dan menyelesaikan pendidikan ini. Semoga Allah SWT selalu melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya kepada beliau.
7. **Ibu Dr. drg Andi Sumidarti, M.Kes** selaku Ko-promotor. Terimakasih yang sebesar-besarnya atas segala bimbingan dorongan dan kepercayaan serta kesempatan untuk melaksanakan penelitian dan menyelesaikan pendidikan ini. Semoga Allah selalu melimpahkan rahmat dan hidayahNya kepada beliau.
8. **Dr. drg. Tamara Yuanita MS., SpKG (K)** selaku penguji eksternal; **Prof. Dr. drg. Rasmidar Samad, MS; Dr. dr. Burhanuddin Bahar, MS; Dr. drg. Indriya Kirana Matulada, MS; Dr. drg. Irene E. Rieuwpassa, MS.i** selaku penguji yang sangat kompeten dibidangnya yang tidak lelah memberikan masukan, saran-saran dan nasehat yang sangat berguna bagi penyempurnaan disertasi ini. Semoga selalu dalam lindungan dan rahmat-Nya.

9. **Ibu Dr. Drg Retno Pudji Rahayu, MKes** selaku konsultan Patologi Mulut dan **Dr. drh. Wiwik Misako, MKes** selaku konsultan dokter hewan, yang sangat kompeten dibidangnya yang tidak lelah membantu, memberikan masukan, saran-saran dan nasehat yang sangat berguna bagi pelaksanaan penelitian ini. Semoga selalu dalam lindungan dan rahmat-Nya.
10. **Bapak Prof. drg. Mansjur Nasir, PhD**, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin, dan **Prof. drg. Moh. Dharmautama, PhD Sp Pros (K)** selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi periode sebelumnya, atas kesempatan yang diberikan untuk mengikuti Pendidikan Doktorat di Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar.
11. **Ibu drg. Nurhayati Natsir, PhD, SpKG**, selaku Ketua Departemen Konservasi dan **Ibu Dr. drg. Andi Sumidarti, MKes**, selaku Ketua Departemen Konservasi periode sebelumnya atas kesempatan yang diberikan untuk mengikuti Pendidikan Doktorat di Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar.
12. Seluruh Staf pengajar Bagian Konservasi Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin, yaitu **drg. Vero Harsinen Sanusi; Dr. drg. Indriya Kirana Matulada, MS; Dr Med Dent. Rehatta Yongki; Dr. drg. Andi Sumidarti, MKes; drg. Maria Tanumihardja, MDSc; drg. Nurhayati Natsir, PhD, SpKG; drg. Hafsah Katu, MKes; drg. Ardo Sabir, MKes; drg. Aries Chandra Trilaksana, SpKG; drg. Christine Anastasia Rovani, SpKG; drg. Wahyuni Suci, SpKG** atas segala kesempatan, bantuan, bimbingan dan arahan dalam menjalani pendidikan.
13. Bapak dan ibunda tercinta, **H. Hudijarso Wibowo, BSc** (almarhum) dan **Hj. Hidajatin** yang tak pernah berhenti mengirimkan doa-doa terbaiknya. Semoga Allah SWT selalu melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya kepada beliau.



14. Bapak dan ibu mertua terhormat, **H. Ome Manne** dan **Hj. Saenab** yang terus memberikan dukungan moril dan materi serta doa. Semoga Allah SWT selalu melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya kepada beliau.
15. Khusus untuk suamiku tercinta **H. Ir. Agussalim Ome** dan anak-anakku tersayang, **Annisa Meydina** dan **Aisyah Dwi Anjani** yang selalu mendukung, memberikan semangat dan doa serta pengorbanan yang sangat besar dengan penuh kesabaran dan pengertiannya mendampingi penulis, penulis minta ampun dan ridha.
16. Kepada teman seperjuangan angkatan 2009, **drg. Asdar Gani, MKes; Dr. drg. Eka Erwansyah, MKes, Sp Orto; drg. Eddy Heriyanto Habar, Sp Orto; drg. Ike Damayanti Habar, Sp Pros** dan **drg. Aries Chandra Trilaksana, SpKG** atas dukungan dan kerjasamanya yang tak terlupakan.
17. Seluruh pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu yang telah membantu saya menyelesaikan pendidikan ini.
- Saya juga menghaturkan maaf sebesar-besarnya apabila terdapat kesalahan dalam penyusunan disertasi ini.
- Semoga Allah SWT melimpahkan rahmat dan karunia-Nya kepada kita semua dan berkenan menjadikan disertasi ini bermanfaat.

Makassar, 08 Januari 2015

Juni Jekti Nugroho

## Abstrak

**Juni Jekti Nugroho.** Analisis Rasio Osteoblas Dan Osteoklas Pada Resorpsi Tulang Periapikal Tikus Wistar Berdasarkan Konsentrasi Dan Lama Induksi Bakteri *Fusobacterium nucleatum*.

(Dibimbing oleh : **Latief Mooduto, Andi Sumidarti, Suryani As'ad**)

Studi ini bertujuan untuk mengetahui dinamika rasio sel osteoblas : osteoklas pada inflamasi periapikal yang di induksi bakteri *Fusobacterium nucleatum* (*Fn*) dengan konsentrasi berbeda pada periode waktu tertentu. Studi ini merupakan eksperimental laboratoris dengan *the post test only control group design*. Terdapat 48 sampel gigi tikus Wistar yang dibagi dalam 9 kelompok. Kelompok A: gigi di induksi bakteri *Fn* dengan konsentrasi  $10^8$  CFU/ml, kelompok B: gigi di induksi bakteri *Fn* dengan konsentrasi  $10^{10}$  CFU/ml dan kelompok C: kelompok kontrol tanpa induksi bakteri. Masing-masing kelompok dibagi lagi sesuai lama induksi bakteri, yaitu 1, 7, dan 21 hari. Hasil analisis menunjukkan bahwa pada hari ke-1 rasio  $10^{10}$  :  $10^8$  CFU/ml yaitu 2.36 : 1. Hal ini menunjukkan bahwa pada hari ke-1 dinamika rasio osteoblas : osteoklas di dominasi oleh osteoblas, baik pada konsentrasi  $10^8$  maupun  $10^{10}$  CFU/ml. Sedangkan pada hari ke-7 sampai hari ke-21 di dominasi oleh osteoklas. Artinya, semakin tinggi konsentrasi bakteri yang diberikan pada subyek maka semakin tinggi rasio osteoblas : osteoklas.

**Kata kunci:** *Fusobacterium nucleatum*, konsentrasi bakteri, resorpsi periapikal, osteoblas, osteoklas

## Abstract

**Juni Jekti Nugroho.** Osteoblast and osteoclast ratio analysis of periapical bone resorption Wistar rats based on concentration and induction time that induced by *Fusobacterium nucleatum*.

(Supervised by : **Latief Mooduto, Andi Sumidarti, Suryani As'ad**)

Caries is a portal of entry for the microorganism into the pulp chamber. Tooth decay involving pulp tissues can be caused by physical, chemical and bacterial agents. Bacterial agent is the most common cause of pulp exposure. The damage may be reversible or irreversible depends on the ability of the pulp to restore itself. Pulp infection induced inflammatory responds that often followed by pulp necrosis, which can cause chronic infection, inflammatory diffuse to the apical region of the tooth, and lesion formation with periapical bone resorption. Pulp necrosis-related periapical lesions commonly induced by anaerobic bacterial infections. The most prevalent anaerobic bacteria in the root canal are *Fusobacterium nucleatum* (*Fn*). The non-culture methods of tooth abscess showed prevalence of 73% *Fn* bacteria. Osteoblast and osteoclast cells play major role in bone formation, resorption, mineral equilibrium, and bone repair. Bone resorption is influenced by osteoclast activating factors, such as, prostaglandin, bacterial endotoxin, and complement activator products: IL-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$ , TNF- $\alpha$ , TNF- $\beta$  and IL-6. Periapical destruction play an important role in root canal treatment failures. Root canal treatment failure is characterized by the persistence of periapical tissue resorption. Excessive resorption can disrupt the balance of bone remodeling process. The outnumbered osteoclast than osteoblasts hampered the bone remodeling equilibrium. This study aim to determine the dynamics of osteoblast : osteoclast cells ratio on *Fn*-induced periapical inflammation with different concentrations. This study is an experimental laboratory with the post test only control group design. There are 48 teeth of Wistar rats that were divided into 9 groups. Group A: the tooth was induced with  $10 \times 10^8$  diluted-*Fn* bacteria, Group B: induced with  $10 \times 10^{10}$  *Fn* bacteria, and Group C: was a control group without bacterial induction. The groups subdivided according to the periods of bacterial exposure, 1, 7 and 21 days. The animal was sacrificed based on the induction periode and prepared for histological examination to determine the periradicular tissues response. The analysis showed that on day 1, the ratio of  $10^{10}$  :  $10^8$  CFU/ml was 3.6 : 1.52 (or ratio of 2.36 : 1). This study suggests that on day 1, the dynamic ratio of osteoblast : osteoclast was dominated by the osteoblasts, at  $10^8$  and  $10^{10}$  CFU/ml, respectively. On day 7 to 21, osteoclast was more profound. It means that the higher bacterial levels on the subject, the ratio of osteoblast : osteoclast also increased.

**Keywords:** *Fusobacterium nucleatum*, bacterial concentration, periapical resorption, osteoblast, osteoclast.

## DAFTAR ISI

	Halaman
Halaman Judul .....	i
Halaman Pengesahan .....	ii
Pernyataan Keaslian Disertasi .....	iii
Halaman Panitia Penguji .....	iv
Prakata .....	v
Abstrak .....	viii
Abstract .....	ix
Daftar isi.....	x
Daftar Gambar .....	xiii
Daftar Tabel dan Grafik .....	xiv
Daftar Singkatan .....	xv
 BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang .....	1
B. Rumusan Masalah .....	7
C. Tujuan Penelitian .....	8
D. Manfaat Penelitian .....	9
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
A. Inflamasi Jaringan Pulpa Dan Periapikal .....	10
B. Klasifikasi Lesi Periapikal .....	11
Periodontitis Apikalis .....	11
C. Bakteri Gram Negatif <i>Fusobacterium nucleatum</i> .....	15
D. Komponen Sel tulang .....	19

E. Diferensiasi sel osteoklas dan osteoblas.....	21
Sel Osteoklas .....	21
Sel Osteoblas .....	21
F. Peran Sitokin Pada Respon Inflamasi Periapikal.....	23
 BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS	
A. KERANGKA TEORI .....	28
B. KERANGKA KONSEP .....	29
C. VARIABEL PENELITIAN .....	30
D. HIPOTESIS .....	30
 BAB IV METODE PENELITIAN	
A. Desain Penelitian.....	32
B. Unit Eksperimen dan jumlah sampel .....	32
C. Definisi Operasional Variabel .....	33
D. Lokasi dan Waktu Penelitian .....	34
E. Pelaksanaan Penelitian .....	35
F. Alur Penelitian .....	38
 BAB V HASIL PENELITIAN	
A. HASIL PENELITIAN .....	39
 BAB VI PEMBAHASAN	
A. PEMBAHASAN .....	44
 BAB VII SIMPULAN DAN SARAN	
A. KESIMPULAN PENELITIAN .....	50
B. SARAN PENELITIAN .....	51

DAFTAR PUSTAKA .....	52
----------------------	----

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Lesi Endodontik .....	12
2. Keseimbangan RANKL-OPG .....	14
3. Regulasi sitokin pada resorpsi tulang periapikal .....	26

## DAFTAR TABEL DAN GRAFIK

1. Tabel 1. Rasio osteoblas : osteoklas antara kelompok konsentrasi bakteri pada tiap periode waktu..... 40
2. Grafik rasio osteoblas : osteoklas antara kelompok konsentrasi bakteri pada tiap periode waktu..... 40
3. Tabel 2. Perbedaan rasio sel osteoblas : osteoklas antara kelompok konsentrasi pada tiap periode waktu..... 41
4. Tabel 3. Rasio sel osteoblas : osteoklas antara periode waktu setelah induksi bakteri pada tiap konsentrasi..... 42
5. Tabel 4. Perbedaan rasio sel osteoblas : osteoklas antara periode waktu (1 hari, 7 hari, dan 21 hari) setelah induksi bakteri pada tiap konsentrasi..... 43



## DAFTAR SINGKATAN

ATCC	: <i>American Type Culture Collection</i>
CFU	: <i>colony forming units</i>
ECM	: <i>Extracellular matrix</i>
EDTA	: <i>Etilenediaminetetraaceticacid</i>
Ca(OH) <sup>2</sup>	: <i>Calcium Hydroxide</i>
CD-14	: <i>Cluster Differentiation-14</i>
GAGs	: <i>Glikosaminoglikans</i>
GM-CSF	: <i>Granulocyte Macrophage –Colony Stimulating Factor</i>
(IFN) $\gamma$	: <i>interferon <math>\gamma</math></i>
IL-1	: <i>Interleukin -1</i>
IL-2	: <i>Interleukin -2</i>
IL-4	: <i>Interleukin -4</i>
IL-6	: <i>Interleukin -6</i>
IL-8	: <i>Interleukin -8</i>
IL-10	: <i>Interleukin -10</i>
IL 12	: <i>Interleukin -12</i>
IL-1 $\alpha$	: <i>Interleukin -1<math>\alpha</math></i>
IL-1 $\beta$	: <i>Interleukin -1<math>\beta</math></i>
IKKs	: <i>inhibitor of NF<math>\kappa</math>B kinase</i>
LBP	: <i>Lipopolisacharide binding protein</i>
LPS	: <i>Lipopolisakarida</i>
MMPs	: <i>Matrix metalloproteinases</i>
NO	: <i>Nitrit Oxide</i>

OCL	: <i>Osteoclast-like cells</i>
OPG	: <i>Osteoprotegerin</i>
PBS	: <i>Phosphate Buffer Saline</i>
PMN	: <i>Polymorphonuclear</i>
RANKL	: <i>Receptor Activator of Nuclear Factor <math>\kappa\beta</math> Ligand</i>
RANK	: <i>Receptor Activator of Nuclear Factor <math>\kappa</math></i>
RSPTI	: <i>Rumah Sakit Penyakit Tropik dan Infeksi</i>
Th-1	: <i>T helper -1</i>
Th-2	: <i>T helper -2</i>
TLR-4	: <i>Toll-like Receptor-4</i>
TNF	: <i>Tumor Necrosis Factor</i>
TNF- $\alpha$	: <i>Tumor Necrosis Factor-<math>\alpha</math></i>
TRAP	: <i>Tartrate resistance-associate receptor</i>
T-reg	: <i>T- regulatory</i>
TIMPs	: <i>Tissue Inhibitory Metalloproteinases</i>